

## Confocal microscopy method using refractive microlens fields

**Patent number:** DE19632594

**Publication date:** 1998-02-19

**Inventor:** SCHWIDER JOHANNES PROF DR (DE)

**Applicant:** SCHWIDER JOHANNES PROF DR (DE)

**Classification:**

- International: G02B21/00

- european: G02B21/00M4A

**Application number:** DE19961032594 19960813

**Priority number(s):** DE19961032594 19960813

### Abstract of DE19632594

The method involves causing a light from an intensive coherent light source to be incident of a beam splitter. The beam splitter outputs a reference wave and also generates an object wave. The object wave illuminates a hole pattern using a suitable lens pattern such that the hole pattern lies in the focal plane of the lens pattern. The light is spatially restricted further by the holes. The light passing through fits a beam splitter and is imaged on an object via a lens system. The back scattered reflected light is fed to a further aperture mask and is then spatially filtered according to the confocal principle. The reflected light is converted into a plane wave via a further micro-lens pattern. The plane wave with the reference wave causes a low frequency interference image. The interference image is formed and detected on a two dimensional highly sensitive receiver via a suitable lens combination and is stored in a connected computer and processed into an image. The intensity modulation of the individual detector elements is used on the basis of the phase variation as three dimensional information.



⑮ BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

⑫ Offenlegungsschrift  
⑩ DE 196 32 594 A 1

⑤① Int. Cl.<sup>6</sup>:  
G 02 B 21/00

②① Aktenzeichen: 196 32 594.3  
②② Anmeldetag: 13. 8. 96  
④③ Offenlegungstag: 19. 2. 98

DE 196 32 594 A 1

⑦① Anmelder:  
Schwider, Johannes, Prof. Dr., 91056 Erlangen, DE

⑦② Erfinder:  
gleich Anmelder

⑤④ Konfokales Mikroskop unter Anwendung von refraktiven Mikrolinsen-Feidern

⑤⑦ Zur Steigerung der axialen Auflösung eines konfokalen Mikroskops wird ein Referenzarm in den Aufbau integriert. Die Referenzwelle wird mit der Objektwelle, die den konfokalen Aufbau durchlaufen hat, zur Interferenz gebracht. Aus dem entstehenden niederfrequenten Interferenzbild kann mit Hilfe geeigneter Auswerteverfahren die Phasenlage beider Wellenzüge extrahiert werden und zur präzisen Entfernungsbestimmung benutzt werden. Der Einsatz von Mikrolinsen erlaubt durch axiale Abrasterung des z-Bereichs eine simultane Bestimmung der z-Komponente einer großen Anzahl von Meßpunkten in der lateralen x-y-Ebene. Dadurch kann in der gleichen Zeit ein größeres Objektfeld oder ein gleich großes Objektfeld in kürzerer Zeit vermessen werden. Die Erfindung kann im Auflichtbetrieb sowohl mit einem Interferometeraufbau realisiert werden, bei dem Spiegel und Strahlteiler getrennt sind, als auch mit einem Aufbau, bei dem Aufteilung und Zusammenführung beider interferierender Bündel am gleichen Teiler erfolgen. Daneben ist die Vorrichtung auch bei einer Durchlichtanordnung möglich.

DE 196 32 594 A 1

## Beschreibung

## 1. Stand der Technik

Das konfokale Prinzip wurde bereits 1957 in dem U. S. Patent Nr. 3,013,467 von M. Minsky beschrieben. Durch die Abbildung nur jeweils eines Objektpunktes auf einen Punktdetektor wird Streulicht von den Nachbarknoten unterdrückt und der Kontrast erhöht. Zudem zeichnet sich ein solches Verfahren dadurch aus, daß Ebenen, die voneinander geringfügig getrennt sind, auch optisch getrennt dargestellt werden und somit ein 3-dimensionales Bild des Objektes erzeugt werden kann. Ein Nachteil dieser Einzelpunkt-Beleuchtung ist, daß zu einer bestimmten Zeit nur ein einziger Punkt gemessen werden kann. Deshalb muß ein konfokales Mikroskop das Objekt Punkt für Punkt abastern, was eine zeitaufwendige Messung mit sich bringt.

Einige Möglichkeiten, wie diese zeitaufwendige Einzelpunktmessung vermieden werden kann, sind z. B. in der Patentanmeldung mit dem Titel "Optische Abtastvorrichtung mit konfokalem Strahlengang, in der Lichtquellen- und Detektormatrix verwendet werden" (Veröffentlichungsnummer 0485 A1) aufgeführt.

## 2. Prinzip und Nachteile des schon bekannten Verfahrens

Oben genanntes Verfahren (0485803 A1) benutzt einen konfokalen Strahlengang zur 3-dimensionalen Untersuchung eines Objektes, wobei ein Beleuchtungsrastrer in eine Fokusebene abgebildet wird, die auf bzw. in der Nähe der Oberfläche des Objektes liegt. Durch die Verwendung eines Beleuchtungsrastrers werden gleichzeitig eine große Anzahl von Punkten innerhalb einer Ebene detektiert, die benötigte Zeit zur 3-dimensionalen Untersuchung eines Objektes wird somit stark reduziert.

Das Raster kann auf verschiedene Weisen erzeugt werden, so wird z. B. die vielfache Abbildung einer beleuchteten Blende mit einem Linsen-Array im obigen Patent angeführt. Zudem besitzt die beschriebene Abtastvorrichtung die Möglichkeit, daß das Beleuchtungsrastrer mit Hilfe eines Objektivs verkleinert auf das Objekt abgebildet wird. Das Verfahren gestattet somit eine relativ schnelle und genaue 3-dimensionale Darstellung von Objekten. Eine zusätzliche Information durch Einbeziehung der Phase ist mit dem geschilderten Verfahren nicht möglich.

## 3. Vorteile der Erfindung

Durch den Einbau eines zusätzlichen Teilerspiegels in eine konfokale Anordnung, läßt sich eine Referenzwelle einspiegeln, die mit der Objektwelle überlagert werden kann. Das entstehende niederfrequente Interferenzbild enthält Informationen über die Phase des verwendeten Lichtes. Das axiale Auflösungsvermögen kann dem Auflösungsvermögen von Interferometern angenähert werden.

## 4. Ausführungsbeispiel

Die Erfindung soll zunächst an Hand zweier einfacher Beispiele erläutert werden, wobei das Beleuchtungsrastrer durch ein refraktives Mikrolinsen-Array erzeugt wird; sie ist jedoch nicht auf diese Art von Raster be-

schränkt.

In den zugehörigen Zeichnungen zeigt

Fig. 1 die Anordnung für das Verfahren bei dem Spiegel und Strahlteiler des Interferometers getrennt sind. Der Teilerspiegel befindet sich vor dem Mikrolinsen-Array, die Referenzwelle wird nach dem 2. Blendensystem mit der Objektwelle vereinigt. Ein optisches System im Objekt- und Referenzarm sorgt dafür, daß sich der Strahlteiler im Fokus beider interferierender Bündel befindet. Das Blendenrastrer wird schließlich durch eine weitere Linse großflächig auf den Detektor abgebildet.

Fig. 2 eine Anordnung gemäß Fig. 1, wobei das Linsen- und Blendenrastrer nach dem Strahlteiler angebracht ist und dieses eine Rastersystem zweimal durchlaufen wird. Eine aufwendige Justage der zwei Blendenrastrer zueinander kann somit umgangen werden.

Fig. 3 eine Anordnung nach Prinzip eines Interferometers, bei dem die Aufteilung und Zusammenführung der interferierenden Bündel am gleichen Teiler erfolgen. Als Strahlteiler wird ein Polarisationsstrahlteiler verwendet, der zusammen mit leicht geneigten  $\lambda/4$ -Plättchen Störreflexe vermeidet.

Fig. 4 eine Anordnung für den Durchlichtbetrieb.

## Patentansprüche

1. Verfahren und Anordnung zur konfokalen Mikroskopie, dadurch gekennzeichnet, daß das Licht einer intensiven kohärenten Lichtquelle auf einen Strahlteiler fällt, wodurch zum einen eine Referenzwelle ausgekoppelt wird und zum anderen eine Objektwelle erzeugt wird, die mit Hilfe eines geeigneten Linsenrastrers ein Lochrastrer derart beleuchtet, daß das Lochrastrer in der Fokalebene des Linsenrastrers liegt und daß das Licht dort räumlich durch die Lochblenden weiter eingeeignet wird und daß das durchgehende Licht einen Strahlteiler passiert und durch ein nachfolgendes Linsensystem auf ein Objekt abgebildet wird und daß das rückgestreute, reflektierte Licht einer weiteren Lochmaske zugeführt wird und dort räumlich entsprechend dem konfokalen Prinzip gefiltert wird und danach über ein weiteres Mikrolinsenrastrer in eine ebene Welle umgewandelt wird, die mit der am ersten Strahlteiler erzeugten Referenzwelle ein niederfrequentes Interferenzbild hervorruft, das dann über eine geeignete Linsenkombination auf einen 2-dimensionalen und hochempfindlichen Empfänger abgebildet, detektiert und in einem angeschlossenen Rechner gespeichert und zu einem Bild verarbeitet wird, wobei die Intensitätsmodulation der einzelnen Detektorelemente aufgrund der Phasenvariation als 3-dimensionale Information genutzt wird, bzw. daß auch noch die lokale Phase mit phase shifting Methoden erfaßt und zur Bilddeutung herangezogen wird.

2. Verfahren und Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß mit linear polarisiertem Licht gearbeitet wird und daß der zweite Strahlteiler als Polarisationsstrahlteiler ausgeführt ist, wodurch das gesamte Licht ein und denselben Ausgang verläßt und daß eine nachgestellte hinreichend geneigte  $\lambda/4$ -Platte das rückgestreute Licht gegenüber dem einfallenden Licht um  $90^\circ$  dreht und daß so das gestreute Licht zum komplementären Ausgang den Strahlteiler verläßt und zum zweiten Blendenrastrer gelangt.

3. Verfahren und Anordnung nach Anspruch 1 und

2, dadurch gekennzeichnet, daß das vom Linsenarray beleuchtete erste Blendenraster auch nach dem zweiten Strahlteiler in den Strahlengang gebracht werden kann, wodurch es zweimal durchlaufen wird und damit dem konfokalen Prinzip genügt und wodurch das auf den zweiten Strahlteiler folgende Blendenraster entfällt.

4. Verfahren und Anordnung nach Anspruch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß auch mit nur einem Strahlteiler, der als Polarisationsstrahlteiler ausgeführt ist, gearbeitet werden kann, der das unpolarisierte Licht einerseits in eine Referenzwelle, die von einem Spiegel reflektiert wird und dabei zweimal eine  $\lambda/4$ -Platte durchläuft und die deswegen den Polarisationsstrahlteiler zum komplementären Ausgang verläßt, und andererseits in eine Objektwelle trennt, die mit Hilfe eines geeigneten Linsenrasters ein Lochraster derart beleuchtet, daß das Lochraster in der Fokalebene des Linsenrasters liegt und daß das Licht dort räumlich durch die Lochblenden weiter eingeengt wird und daß das durchgehende Licht durch ein nachfolgendes Linsensystem auf ein Objekt abgebildet wird und daß das rückgestreute reflektierte Licht dasselbe Lochraster und Mikrolinsen-Array durchläuft, wodurch es entsprechend dem konfokalen Prinzip räumlich gefiltert wird und wobei es eine  $\lambda/4$ -Platte zweimal durchläuft, so daß das am Objekt reflektierte Licht den Polarisationsstrahlteiler zum selben Ausgang wie die reflektierte Referenzwelle verläßt und mit dieser zur Interferenz gebracht wird und daß das entstehende Interferenzbild nach Anspruch 1 detektiert und ausgewertet wird.

5. Verfahren und Anordnung nach Anspruch 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die für die phase shifting Methoden erforderlichen wohldefinierten Phasenverschiebungen durch eine Veränderung der optischen Weglänge im Referenzarm realisiert werden.

6. Verfahren und Anordnung nach Anspruch 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß Licht unterschiedlicher Frequenz verwendet wird, wobei beide Frequenzen orthogonal zueinander polarisiert sind und beide unabhängig voneinander moduliert werden und daß der Aufbau so realisiert ist, daß der Referenzarm von nur einer Frequenz und der Objektarm von der anderen Frequenz durchlaufen wird und daß beide überlagert werden und daß Detektion und Auswertung des Signals nach den Methoden der Heterodyn-Interferometrie erfolgen.

7. Verfahren und Anordnung nach Anspruch 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß Licht unterschiedlicher Frequenz verwendet wird, wobei beide Frequenzen unabhängig voneinander moduliert werden und daß der Aufbau so realisiert ist, daß beide Frequenzen in beiden Armen laufen und daß die Referenzwelle nach dem Verlassen des Polarisationsstrahlteilers zum komplementären Ausgang um  $\lambda/2$  verzögert wird und daß beide anschließend nach ihrer Trägerfrequenz getrennt und detektiert werden und die Auswertung unter Ausnützung der Schwebung beider Frequenzen erfolgt.

8. Verfahren und Anordnung nach Anspruch 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß Licht unterschiedlicher Frequenz verwendet wird, wobei beide Frequenzen orthogonal zueinander polarisiert sind und beide unabhängig voneinander moduliert wer-

den und daß der Aufbau so ausgeführt wird, daß anstatt des Polarisationsstrahlteilers ein gewöhnlicher Strahlteiler Verwendung findet, so daß beide Frequenzen in beiden Armen laufen, wobei die  $\lambda/4$ -Plättchen in den Armen entfallen und statt dessen ein  $\lambda/4$ -Plättchen im Referenzarm das Referenzsignal um  $\pi/2$  verzögert und daß sie anschließend mit einem Polarisationsstrahlteiler getrennt und detektiert werden und die Auswertung unter Ausnutzung der Schwebung beider Frequenzen erfolgt.

9. Verfahren und Anordnung nach Anspruch 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Verhältnis der Intensitäten auf Eins abgeglichen werden kann.

10. Verfahren und Anordnung nach Anspruch 1, 2, 4 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß das Verfahren auf Durchlichtbetrieb angewendet werden kann, indem der Strahlteiler im Objektarm entfällt und statt dessen hinter dem Objekt ein weiteres Blendenraster in den Strahlengang gebracht wird, das das Licht nach dem konfokalen Prinzip filtert und daß das durchgehende Licht anschließend mit der Referenzwelle überlagert und nach den vorhergehenden Ansprüchen detektiert und ausgewertet wird.

---

Hierzu 4 Seite(n) Zeichnungen

---

- Leerseite -

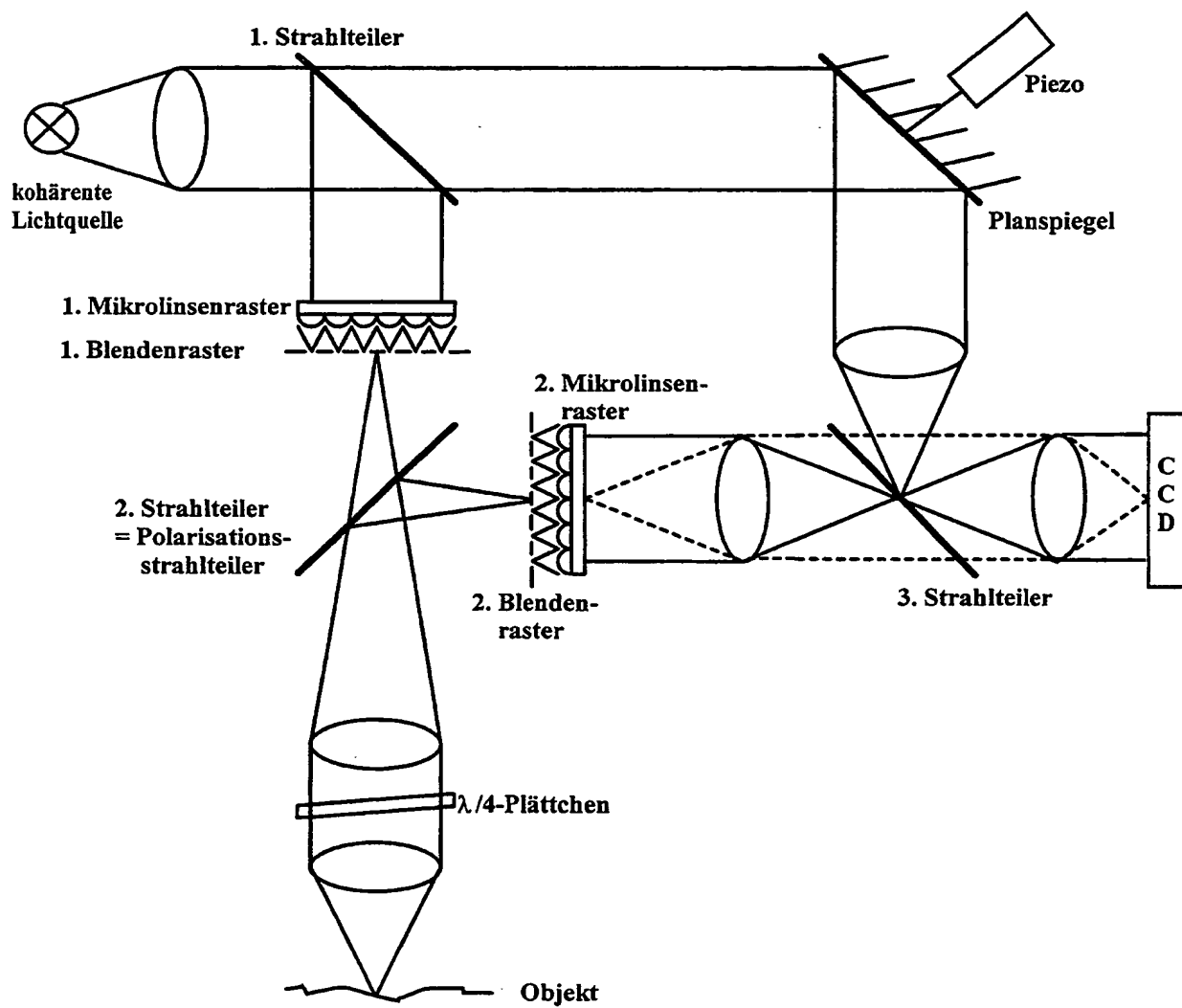


FIG.1

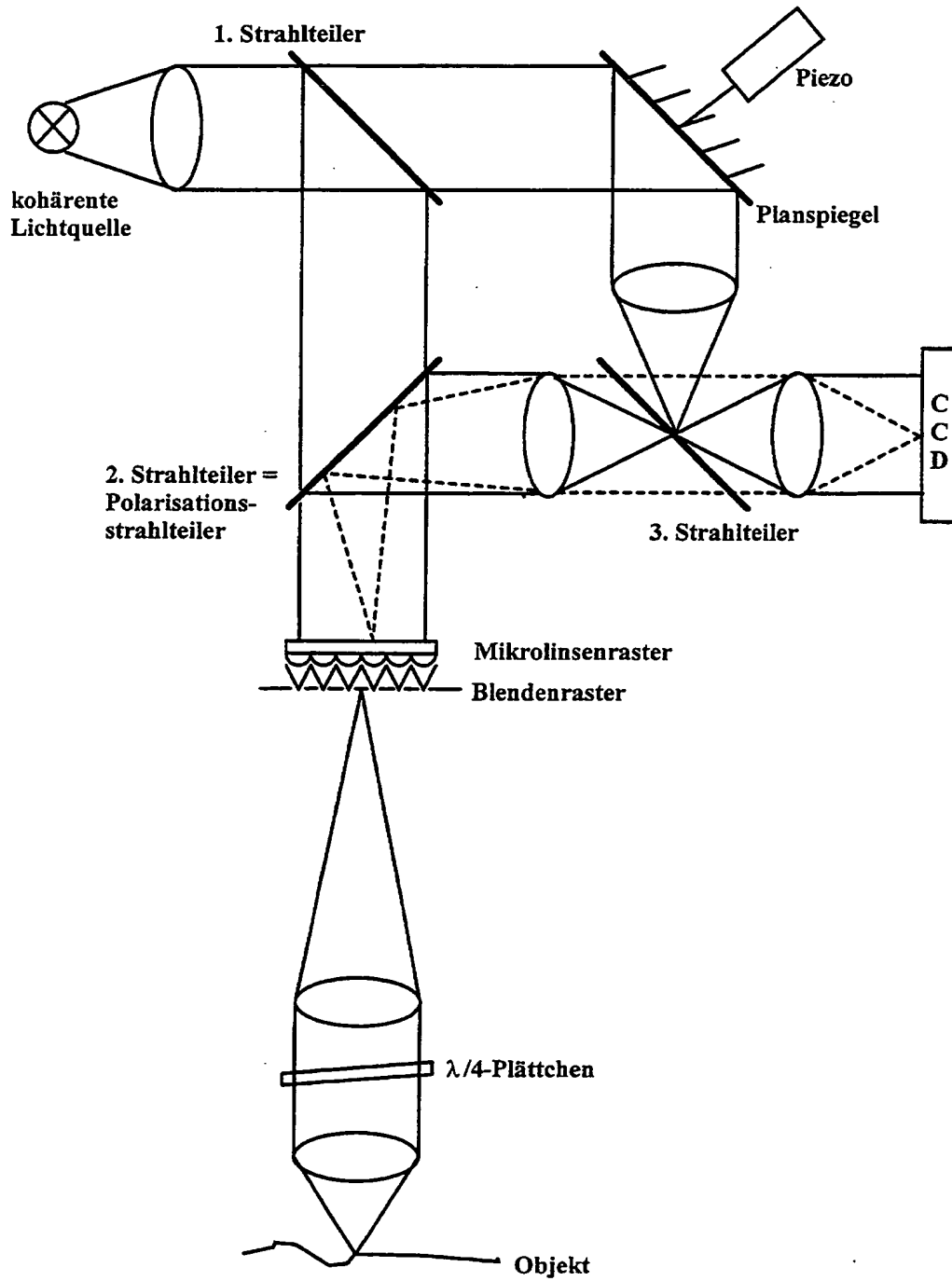


FIG. 2

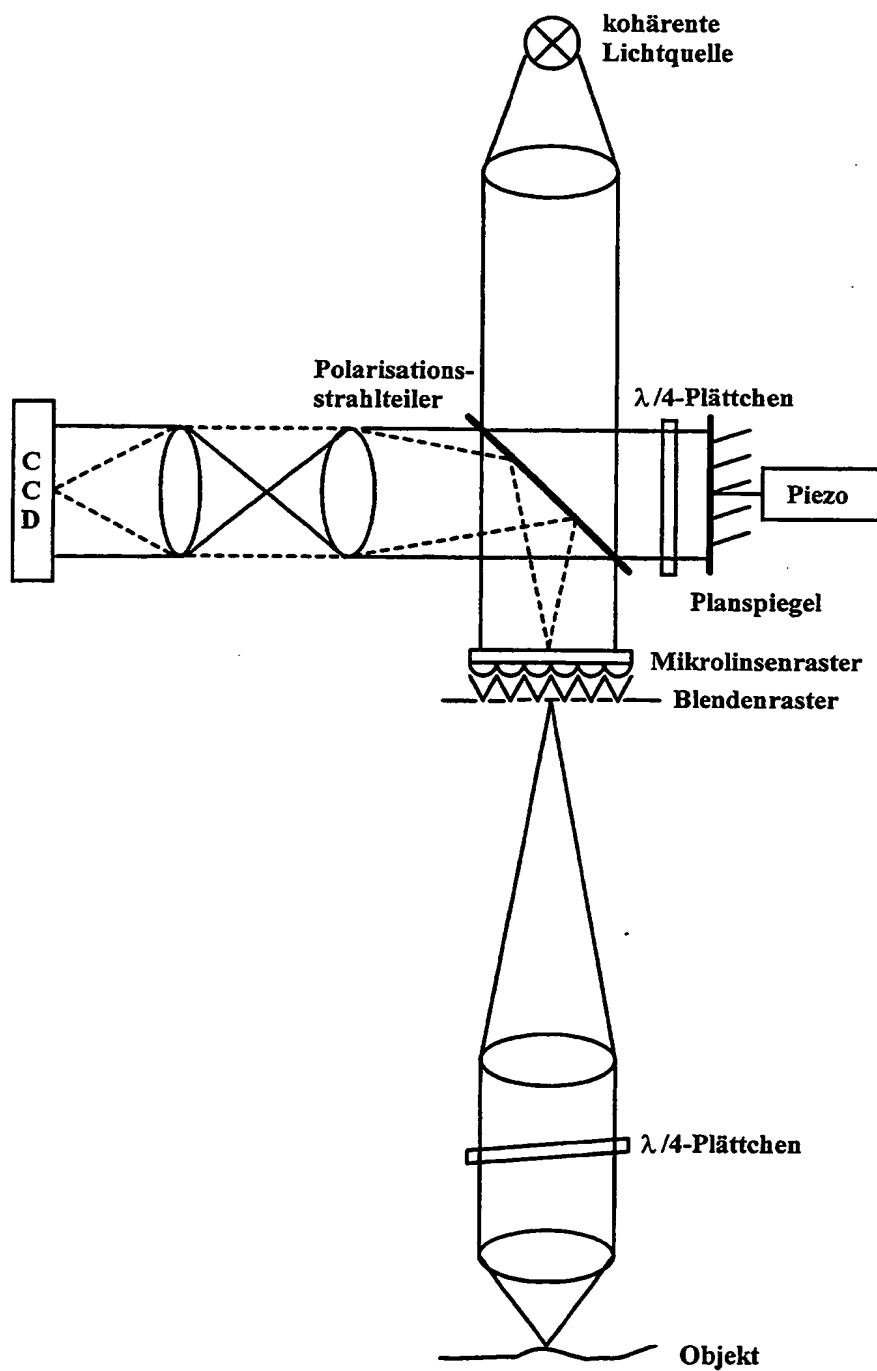


FIG.3



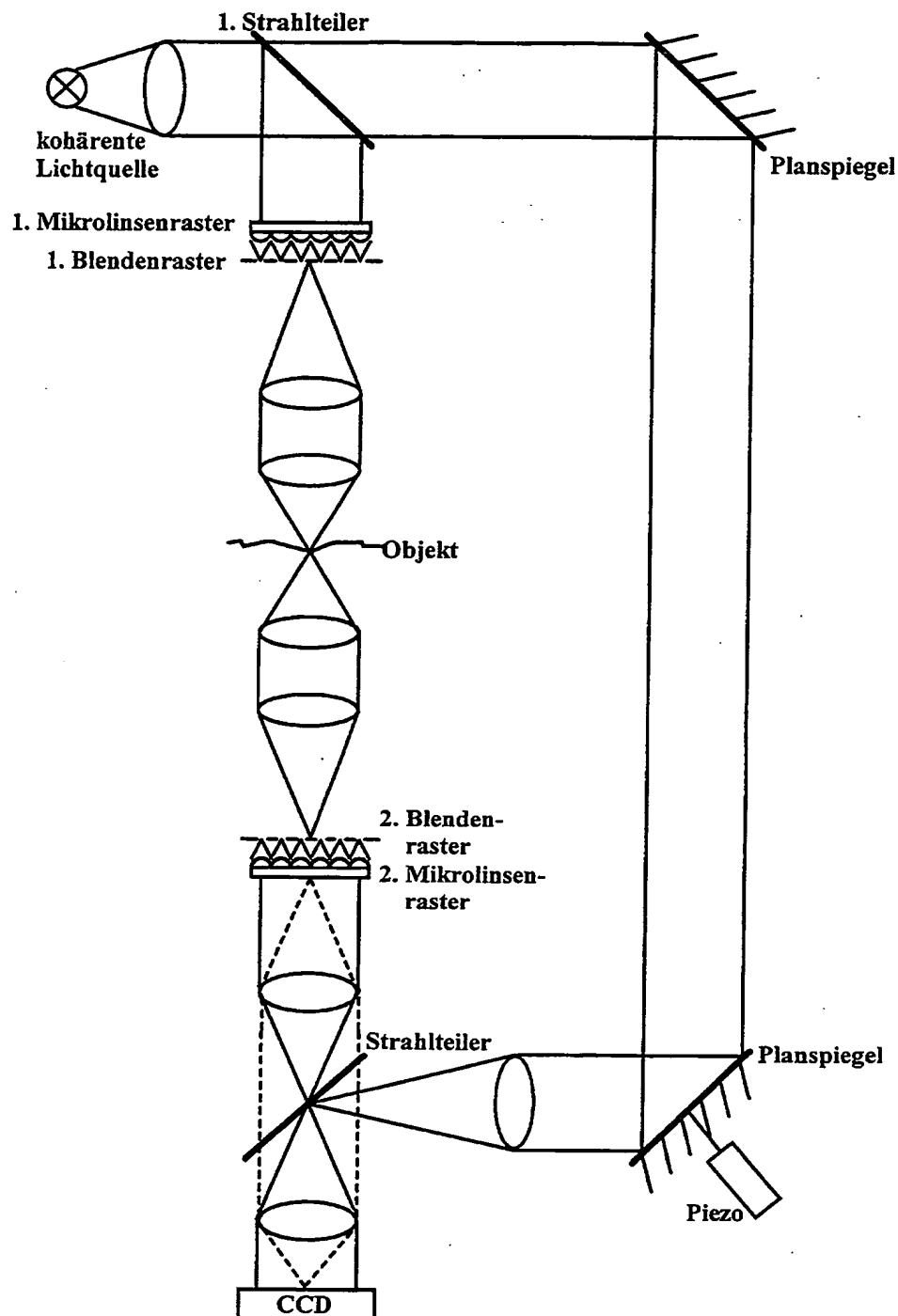


FIG.4